

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ЛИЧИНОК ТРИХИНЕЛЛ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Л. Новоселска, Ж. Желев, Я. Иванов

Кафедра общей биологии Медицинского факультета, Плевен,
Медицинская академия, София

Проведены исследования изоферментов личинок трихинелл, изолированных из морских свинок в различные периоды после инвазирования. Установлено, что на 30-й день заражения в тканях личинок содержатся 2 изофермента, а с 40-го по 400-й день заражения — 3. Исходя из электрофоретической подвижности обнаруженных изоферментов авторы приходят к выводу, что у личинок трихинелл имеет место высвобождение энергии для метаболических процессов как путем гликолиза, так и путем реакций по циклу Кребса.

Интерес к изоферментам лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяется их ролью регулятора в процессе гликолиза. С помощью электрофореза в мышцах млекопитающих открыто 5 изоферментов лактатдегидрогеназы. По мнению Merkert (1963), медленнодвигающиеся изоферменты ЛДГ-4 и ЛДГ-5 встречаются преимущественно в тканях, в которых основным источником энергии является гликолиз, а изоферменты ЛДГ-1 и ЛДГ-2 катализируют разрушение пировиноградной кислоты по циклу Кребса.

В экстрактах из личинок трихинелл Dusanic (1966) обнаружил 2 ЛДГ-изофермента, а Новоселска и Еврев (1975) определили их место в энзимограмме.

Цель настоящей работы заключалась в изучении электрофоретической подвижности изоферментов ЛДГ личинок трихинелл, выделенных из морских свинок в разные периоды (с 30-го по 400-й день) после инвазии. Выделенные изоферменты ЛДГ личинок разного возраста сравнивали по электрофоретической подвижности с изоферментами ЛДГ мышечной ткани морских свинок.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Личинок трихинелл изолировали из инвазированных морских свинок по методу, описанному ранее Новоселской (1973). Личинки были освобождены из мышечной ткани животных на 30-й, 40-й, 50-й, 60-й, 70-й, 80-й, 180-й, и 400-й дни после инвазирования и промыты многократно в физиологическом растворе до отрицательной на белок реакции. Затем личинок гомогенизировали в тефлоновом гомогенизаторе при 4° С с равным объемом 0.15 М раствора хлористого натрия, а гомогенат центрифугировали при 8000 об/мин в течение часа. Содержание белка полученных супернатантов определяли методом рефрактометрии и доводили до его конечной концентрации 2 г%. В каждую пробу добавляли сахарозу до конечной концентрации 50%. Изоферменты ЛДГ исследовали методом электрофореза в 7.5%-м полиакриламидном геле по методу, описанному Mauger (1968).

Таким же методом были исследованы изоферменты ЛДГ скелетных мышц здоровых незараженных морских свинок.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты проведенных сравнительных исследований изоферментов ЛДГ личинок трихинелл и мышечной ткани здоровой морской свинки представлены на энзимограммах *I*, *II*, *III* и *IV* на рисунке.

На энзимограмме *I* даны результаты исследований изоэнзимов личинок, изолированных на 30-й день после инвазии. Как видно, личинки трихи-

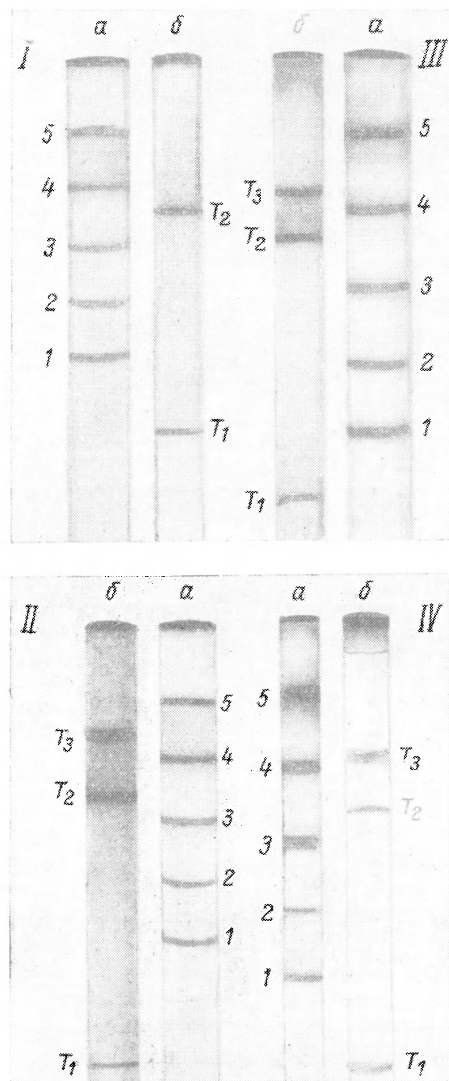
нелл содержат 2 изофермента ЛДГ. Первый (T_1) более подвижный, расположен в анодной области вблизи полоски цветного индикатора бромфенолового синего. Второй (T_2) изофермент ЛДГ более медленный и расположен между ЛДГ-3 и ЛДГ-4 скелетных мышц. Он представлен широкой и интенсивно окрашенной полоской.

У личинок, выделенных на 40-й день (энзимограмма *II*), эти 2 энзима сохраняются, но в катодной области появляется новый, третий изофермент ЛДГ (T_3). Он менее подвижен и располагается между ЛДГ-4 и ЛДГ-5 скелетных мышц свинки. Самую высокую интенсивность окраски имеет T_2 ЛДГ-изоэнзим. Энзимограмма экстрактов из личинок 50-го дня подобна энзимограмме экстрактов из личинок 40-го дня.

У личинок, выделенных на 60-й день (энзимограмма *III*), также обнаружены 3 изофермента ЛДГ, но полосы, представляющие изоферменты T_2 и T_3 , по интенсивности окрашивания равны между собой, т. е. наблюдается перераспределение в содержании изоферментов по сравнению с личинками 40-го дня.

Энзимограммы изоферментов ЛДГ, выделенных из личинок трихинелл и мышечной ткани здоровой морской свинки.

α — мышечная ткань морской свинки; δ — личинки трихинелл: *I* — на 30-й, *II* — на 40-й, *III* — на 60-й, *IV* — на 70-й дни после инвазии. Остальные обозначения в тексте.



Эти 3 ЛДГ-изоэнзима сохраняются и в личинках, изолированных на 70-й день после инвазии, но полоса, относящаяся к самому медленному ЛДГ-изоэнзиму (T_3), лучше выражена (энзимограмма *IV*).

Исследования экстрактов личинок, взятых на 80-й, 90-й, 180-й и 400-й дни, дали результаты, аналогичные результатам, полученным при исследовании личинок 70-го дня, т. е. определяются 3 полосы с аналогичным расположением.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В водно-солевом экстракте из личинок трихинелл, выделенных на 30-й день после инвазии морских свинок, были обнаружены 2 изофермента, что подтвердило результаты, полученные ранее (Dusanic, 1966; Новоселска,

Еврев, 1975). Как показали наши данные, третий изофермент ЛДГ появляется позже у личинок 40-го дня и сохраняется затем у личинок всех поздних стадий. Это говорит о том, что оба автора проводили свои исследования на личинках, изолированных у животных около 30-го дня после инвазии.

Из литературы известно, что к менее подвижным в электрофорезе изоферментам ЛДГ относятся ферменты, участвующие в гликолизе, а к группе более подвижных изоферментов относятся изоферменты, участвующие в дыхании.

Наши данные свидетельствуют о том, что личинки, выделенные на 30-й день, содержат 2 изофермента, из которых один относится по своей подвижности к первой группе, а другой ко второй. Таким образом, личинки этого периода обладают способностью к разрушению углеводов как аэробным, так и анаэробным путем превращения углеводов.

Появившийся у личинок на 40-й день хорошо выраженный третий самый медленный ЛДГ-изоэнзим свидетельствует об углублении у личинок адаптационного процесса, в связи с чем и начинается синтез этого нового энзима. Интенсивность его синтеза, вероятно, нарастает, так как у личинок 70-го дня он преобладает. Так как этот изофермент относится к группе менее подвижных изомеров, то можно предположить, что личинки трихинелл получают энергию преимущественно путем гликолиза.

Содержание самого быстрого ЛДГ-изофермента сохраняется, хотя и в небольшом количестве, у личинок всех поздних стадий. Этот факт — серьезное указание на то, что личинки трихинелл сохраняют некоторые возможности для аэробного разрушения углеводов. Эту точку зрения высказывает и Ruitenbergh (1973). Он допускает, что личинки трихинелл удовлетворяют свои энергетические потребности путем как гликолиза, так и реакций, протекающих по циклу Кребса. Противоположное мнение высказывают Kozar с соавт. (1964) и Березанцев (1974), которые считают, что у личинок трихинелл разрушение углеводов происходит только пентофосфатным метаболическим путем. Результаты наших энзимогистохимических исследований лактатдегидрогеназы и некоторых других дегидрогеназ из цикла Кребса у личинок трихинелл (Novoselska et al., 1976; Baydanoff et al., 1976) еще раз подтверждает точку зрения Ruitenbergh (1973).

Так как по своей электрофоретической подвижности ЛДГ-изоферменты личинок трихинелл отличаются от ЛДГ-изоферментов скелетной мускулатуры морской свинки, то можно понять, что эти изоферменты специфичны только для личинки.

Л и т е р а т у р а

- Б е р е з а н ц е в Ю. Я. 1974. Трихинеллез. «Медицина», М.: 1—160.
- Н о в о с е л с к а Л. 1973. Адсорбция групповых А и В антигенов лиофилизатом личинок трихинеллы. В кн.: Актуальные вопросы клеточной иммунологии и иммуногенетики. «Мед. и физкультура», София: 241—243.
- Н о в о с е л с к а Л., Е в р е в Т. 1975. Лактатдегидрогеназы изоэнзимами в ларви от *Trichinella spiralis*. Научни трудове на Медицински факултет, ОНС, отдел «Народно здраве» и ПООБ, Плевен, т. 9: 31—35.
- Б а у д а н о ф ф St., Н о в о с е л с к а Л., I r i n c h e f f A. 1976. Some dehydrogenases of the Krebs cycle and other mayor metabolic pathways of experimental Trichinellosis. International Conference on Trichinellosis — Poznan, VIII, 1976, Poland.
- Д у с а н и ć D. C. 1966. Serologic and enzymatic investigations of *Trichinella spiralis*. Exp. Parasitology, 19: 310—312.
- К о з а р Z., К а р п і а к S., К р з и з а н о в с к и M., К о з а р M. 1964. Metabolism of larv *Trichinella spiralis*. Wiad. parazytol., v. 10: 280.
- М а р к е р т C., А р р е л л а E. 1963. Immunochemical properties of LDH-isoensimes. Ann. N. Acad. Sci., v. 103: 915.
- М а у р е р H. R. 1968. Disk-Electrophorese. Theorie und praxis der discortinuirlichen Polyacrilamidgel. В кн.: Electrophorese. Walder Druyter Co, Berlin: 44—108.
- Н о в о с е л с к а L., Б а у д а н о ф ф St., I r i n c h e f f A. 1976. A corelative histoenzymochemical study on gross-striated musculature of guinae pig and Trichinellosis. Folia Anatomica Yugoslavica, v. 5: 129—137.
- Р у и т е н б е р г E. J. 1973. Immunological aspects of *Trichinella spiralis* infection in the rat. Proc. III Intern. Conf. on Trichinellosis, New York: 205—212.

STUDIES OF LACTODEHYDROGENASE ISOENZYMES IN TRICHINELLA LARVAE OF DIFFERENT AGE

L. Novoselska, Zh. Zhelev, Ja. Ivanov

S U M M A R Y

LDH isoenzymes of *Trichinella* larvae isolated from experimentally infected guinea pigs were investigated between days 30 and 400 inclusive after infection. It was found that on the 30 th day after infection the larvae have two isoenzymes while from the 40th to the 400 th day — three isoenzymes. The first of the latter is of fast response and is located in the anod area near the indicator while the two others are of slow response and are located between the isoenzymes LDH-3 and LDH-5 of the muscular tissue of guinea pigs. This indicates that energetic metabolism of *Trichinella* larvae proceeds in muscular tissues by aerobic and anaerobic way.

Since electrophoretic specificity of LDH-isoenzymes of *Trichinella* larvae differ from that of LDH-isoenzymes of muscular tissue the former are apparently characteristic of *Trichinella* larvae.
